اسانس روغنی نعناع: استخراج، بررسی خواص، شبیه‌سازی و بهینه‌سازی شرایط نگه‌داری آن

محمدرضا میرالوار[۱]، پایا حسنعلی زاده[۱]، سروین محمدی اقدم[۲]، امید احمدی[۳*]

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی پلیمر، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

[۳] استادیار، گروه شیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

[۲] دانش آموخته دکتری، گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

(o_ahmadi@sut.ac.ir)

چکیده

امروزه بحث پژوهش درزمینه گیاهان دارویی و غذایی حائز اهمیت بوده و گسترش دامنه داروهای جدید از منابع طبیعی به‌عنوان راهکاری مناسب و دارای ارزش راهبردی و اقتصادی اهمیت خاصی پیداکرده است. یکی از این گیاهان مناسب و کاربردی نعناع (*Mentha spicata L*) بوده و خواص فراوان دارویی دارد. با انجام اسانس‌گیری با دستگاه کلونجر مقدار ۲/۴ mL اسانس روغنی نعناع بدست آمد، جهت بهینه‌سازی شرایط نگه‌داری، اسانس استخراج‌شده تحت چهار شرایط مختلف نگه‌داری: (۱)درب باز محفظه در دمای محیط (۲)درب بسته محفظه در دمای محیط (۳)درب باز محفظه در دمای یخچال (۴)درب بسته محفظه در دمای یخچال قرار گرفت. از نرم‌افزار COMSOL Multiphysics با هدف دنبال کردن شبیه‌سازی شرایط مختلف نگه‌داری اسانس استخراج‌شده استفاده گردید. با شبیه‌سازی فرآیند انتقال جرم تحت شرایط مختلف نگه‌داری، زمان اولیه تبخیر اسانس برای ۴ حالت در شرایط نگه‌داری (۱)، (۲)، (۳) و(۴) به ترتیب زمان‌های ۳۰، ۱۰۵، ۲۷۰ و ۴۸۰ دقیقه بدست آمد. بعبارتی پس از گذشت زمان‌های محاسبه شده کاهش حجم در اسانس استخراج‌شده اتفاق خواهد افتاد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس نعناع با روش DPPH اندازه‌گیری شده و مقدار ۵۶٪ بدست آمد. پس از ۱۴۴ ساعت زمان نگه‌داری فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها با شرایط مختلف (۱)الی(۴)به ترتیب به مقادیر ۷٪، ۱۸٪، ۱۳٪ و ۴۷٪ رسید. نتایج خاصیت ضدباکتریایی اسانس نعناع در مقابل دوگونه مختلف باکتریایی گرم منفی (*اشرشیا کولی*) و گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) ارزیابی شده و خاصیت ضدباکتریایی اسانس در مقابل باکتری گرم مثبت (۲۲ mm) بیشتر از باکتری گرم منفی (۱۷ mm) بود. ارزیابی خاصیت ضدباکتریایی اسانس نیز تحت ۴ شرایط مختلف با گذشت ۱۴۴ ساعت، بهترین شرایط نگه‌داری شرایط (۴)بوده که در مقابل باکتری گرم مثبت، کاهش ۱۳٪ معادل ۱۹ mm و در مقابل باکتری گرم منفی با کاهش ۱۱٪ خاصیت، قطر هاله تشکیل‌شده ۱۵ mm بدست آمد.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدانی، اسانس روغنی نعناع، بهینه‌سازی، شبیه‌سازی، ضدباکتریایی

۱- مقدمه

بیماری‌های مختلف و متنوع، بار مالی فراوانی را به جوامع بشری تحمیل می‌نمایند. آنتی‌بیوتیک‌های سنتز شده در دهه‌های گذشته هر چند توانسته‌اند نقش مهمی را در درمان این بیماری‌ها ایجاد نمایند، اما مشکلاتی که در رابطه با بروز مقاومت‌های میکروبی آنتی‌بیوتیکی‌ها به وجود آمده باعث گردیده تا به مصرف هر چه بیشتر داروی های گیاهی گرایش پیدا شود (۱۸). امروزه بحث تحقیق و پژوهش در زمینه گیاهان مختلف که کاربردهای دارویی و غذایی بالقوه‌ای دارند بسیار حائز اهمیت بوده و گسترش دامنه داروهای جدید از منابع طبیعی به‌عنوان راهکاری مناسب و دارای ارزش راهبردی و اقتصادی در سطح جهان اهمیت خاصی پیداکرده است. به‌طوری‌که در حال حاضر این مواد و مشتقات آن‌ها به‌عنوان افزودنی‌های طبیعی غذایی به مصرف رسیده و درصد قابل‌توجهی از داروهای گیاهی برگرفته از منابع طبیعی در مراکز درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱). در صنایع غذایی نیز به علت گرایش منفی مردم در مصرف غذاهایی که در آن‌ها نگه‌دارنده‌های شیمیایی استفاده‌شده است، باعث گردیده که از منابع گیاهی علاوه بر استفاده به‌عنوان طعم‌دهنده به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی نیز استفاده نمایند (۱۳).

یکی از این گیاهان مناسب و کاربردی نعناع (با نام علمی *Mentha spicata L*) بوده که طبع گرم و خشک داشته و خواص فراوان دارویی دارد و مصرف آن به اشکال مختلف امکان‌پذیر است. گونه‌های نعناع متعلق به خانواده نعنائیان هستند و به‌طور گسترده در اروپا، آسیا، آفریقا، استرالیا و آمریکای شمالی پراکنده هستند (۱۴). نعنا یکی از گیاهان خوراکی خوش عطر و طعمی است که به‌صورت پرورشی و خودرو به‌راحتی رشد می‌کند. بیشتر گونه‌های نعناع چندساله هستند، و به‌طور گسترده به‌عنوان محصولات صنعتی برای تولید اسانس کشت می‌شوند (۱۲).

استفاده از مشتقات گیاهان مختلف شامل اسانس‌ها، عرقیات و عصاره‌های گیاهی که محصولات فرآوری شده گیاهان دارویی می‌باشند، می‌توانند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای مواد نگه‌دارنده سنتزی بوده و در صنایع غذایی کاربردهای مختلفی را به‌خوبی از خود نشان دهد، همچنین با توجه به خاصیت بالای ضدباکتریایی این مواد، می‌توان در بسیاری از کاربردهای دارویی به عنوان جایگزین با داروهای شیمیایی مورد استفاده قرار بگیرند، این در حالی است که عوارض جانبی این ترکیبات از داروهای شیمیایی کمتر است (۱۷). روغن‌های اسانسی، عموماً مایع بوده و شامل مخلوطی از ترکیبات متفاوت می‌باشند. کمیت و کیفیت اسانس‌ها که توسط گونه‌های مختلف گیاهان تولید می‌شوند، رابطه مستقیمی با بیوسنتز، متابولیسم و فعالیت‌های بیولوژیک گیاه دارد که آن نیز تابع شرایط اقلیمی محیط‌زیست گیاه می‌باشد (۱۱).

اسانس نعناع یکی از پراستفاده ترین اسانس‌ها بوده که به‌واسطه بوی خنک طرفداران بسیاری دارد و به روش تقطیر از برگ و سرشاخه‌های گلدار این گیاه تهیه می‌شود. اسانس نعناع حدوداً حاوی ۴۰٪ منتول است که ماده مؤثره و منشاء رایحه و اثر خنک‌کنندگی نعناع می‌باشد. اسانس این ماده یکی از موادی است که دارای خاصیت بالای آنتی اکسیدانی نسبت به سایر گیاهان دارویی موجود می‌باشند. اسانس نعناع به‌طور گسترده برای مصارف مختلفی استفاده می‌شود. این روغن امروزه به‌طور گسترده‌ای در آماده‌سازی خوراک‌ها، عطرها و برای درمان انواع مختلفی از مشکلات استفاده می‌شود. مهم‌ترین خاصیت نعنا تسکین ناراحتی‌های گوارشی مانند معده درد است (۷ و ۲۳). خاصیت آب‌گریزی اسانس‌ها و برخی از خصوصیات ویژه آن‌ها از جمله حلالیت پایین در آب، فرار بودن و بسیار غلیظ بودن اسانس‌ها، باعث شده استفاده از این ترکیبات طبیعی در مواد غذایی به‌خصوص مواد آشامیدنی محدودیت داشته باشد. همچنین علی‌رغم موارد ذکر شده، اکسیداسیون سریع و بی‌ثباتی شیمیایی اسانس‌ها در حضور نور، رطوبت و دمای بالا از معایب آن به شمار رفته که کاربرد و استفاده از آن‌ها را محدود ساخته است (۱۹). برای غلبه بر این مشکل و استفاده بهینه

از اسانس‌ها در مواد غذایی و دارویی باید به دنبال راهکارهایی مناسب بود که خواص منحصر به فرد این مواد علاوه براینکه دستخوش تغییرات نامطلوب نگردد، بلکه تقویت نیز گردد. عوامل متعدد ثاثیرگذار در نگه‌داری اسانس‌ها بایستی در شرایط مناسب کنترل گردیده تا در نهایت اسانس استخراج‌شده خواص ذاتی خود را حفظ نماید (۱۶ و ۲۰).

یکی از راهکارهای پیشنهادی، علاوه بر انجام آزمایش‌های عملیاتی، انجام شبیه‌سازی به کمک نرم‌افزارها می‌باشد. انجام این کار توانایی تشخیص شرایط خروجی یک فرآیند را دارد. همچنین با استفاده از این تکنیک‌ها نه تنها در جهت رسیدن به اهداف علمی، بلکه برای انجام امور روزمره بشر نیز می‌توان مورد استفاده قرار بگیرند. با انجام شبیه‌سازی می‌توان کنترل حرکات و واکنش‌های یک سیستم را به‌سادگی در اختیار گرفت. کنترل این حرکات معمولاً متحمل صرف هزینه و وقت زیاد می‌باشد اما با انجام شبیه‌سازی می‌توان با هزینه کم این بررسی‌ها را انجام داده و به بهترین انتخاب رسید (۱۰، ۱۵، ۱۸ و ۲۲).

تحقیق حاضر با اهداف مختلف که شامل موارد زیر می‌باشد انجام شد: ۱- استخراج اسانس روغنی نعناع با روش بهینه و مناسب ۲- شبیه‌سازی شرایط نگه‌داری اسانس استخراج‌شده تحت شرایط متنوع با استفاده از نرم‌افزار COMSOL Multiphysics نسخه 5.6 ساخت کشور آمریکا ۳- بررسی خواص آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی اسانس نعناع استخراج‌شده تحت شرایط نگه‌داری متنوع، در انتها نتایج بدست آمده از شبیه‌سازی انجام‌شده و آزمایشات عملی بررسی‌شده با یکدیگر مقایسه گردیده و نتیجه‌گیری نهایی حاصل شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

در تحقیق حاضر از گیاه نعناع استفاده شد که از بازارهای محلی مهاباد خریداری شد. از آب مقطر (شرکت بهروان شیمی)، به‌عنوان حلال بخش اسانس گیری استفاده گردید. جهت بررسی خواص باکتریایی از دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1112) و *اشرشیا کولی* (PTCC 1270) که از بانک میکروبی ایران خریداری شد استفاده گردید و جهت بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی از ماده ۲و۲ دی فنیل-۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده گردید.

۲-۲- استخراج اسانس روغنی نعناع:

با توجه به مطالعات انجام‌گرفته پیشین، استخراج اسانس روغنی نعناع با استفاده از دستگاه کلونجر طبق روش احمدی و جعفری زاده مالمیری به‌صورت زیر انجام گرفت (۲). گیاه نعناع خریداری‌شده جهت افزایش نرخ انتقال جرم و استخراج هرچه بیشتر اسانس با استفاده از خردکن برقی مدل Best ساخت کشور ایران ریزتر گردیده و به پودر تبدیل گردید. مقدار ۱۰۰ گرم از بدست آمده به همراه ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر هر کدام به‌طور مجزا به بخش‌های مختلف دستگاه اسانس گیر شیشه‌ای کلونجر انتقال‌یافته و به مدت ۲/۵ ساعت اسانس گیری با روش تقطیر با آب و بخار آب در دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت و مقدار ۲/۴ میلی‌لیتر اسانس روغنی نعناع بدست آمد.

۲-۳- آنالیز و بررسی خواص:

پس از استخراج اسانس روغنی نعناع با روش بیان‌شده، آنالیز طیف‌سنجی مادون‌قرمز (FTIR) با جهت مشخص نمودن گروه‌های عاملی اسانس استخراج‌شده با استفاده از دستگاه UNICAM 800 مدل Shimadzu به‌وسیله ماده بی‌اثر KBr در محدوده عدد موجی cm^{-1} ۴۰۰ الی ۴۰۰۰ انجام گرفت. جهت بررسی و بهینه‌سازی شرایط نگه‌داری اسانس استخراج‌شده نعناع، ماده بدست آمده تحت چهار شرایط مختلف نگه‌داری به‌صورت زیر قرار گرفت.

۱- دمای یخچال (۴ ^{o}C) – درب محفظه باز

۲- دمای یخچال (۴ ^{o}C) – درب محفظه بسته

۳- دمای محیط (۲۵ ^{o}C) – درب محفظه باز

۴- دمای محیط (۲۵ ^{o}C) – درب محفظه بسته

به‌منظور بررسی خواص اسانس استخراج‌شده و اثر شرایط نگه‌داری بر ویژگی‌های آن، مقدار اسانس استخراج‌شده، خواص آنتی اکسیدانی با روش DPPH و همچنین خاصیت ضد باکتریایی ماده استخراج‌شده با روش انتشار چاهک با روش شرح داده‌شده در پژوهش احمدی و جعفری زاده مالمیری پس از مدت زمان مشخص بدست آمده از نتایج شبیه‌سازی انجام گرفت (۳ و ۴).

۲-٤- شبیه‌سازی

همان‌طور که در بخش مقدمه بیان شد، از نرم‌افزار COMSOL Multiphysics با هدف دنبال کردن شبیه‌سازی شرایط مختلف نگه‌داری اسانس استخراج‌شده (بیان‌شده در بخش قبل-آنالیز و بررسی خواص) بر پایه قوانین انتقال جرم و میزان انتشار آن در محیط استفاده گردید (۵).

تئوری مسئله: در پژوهش حاضر با توجه به ساکن بودن اسانس استخراج‌شده در محفظه نگه‌داری تحت شرایط متنوع دمایی، گرادیان غلظت از طریق مکانیسم نفوذ انتقال جرم صورت گرفته و هرچه میزان انتقال جرم بیشتر باشد، پدیده نامطلوبی بوده و اسانس استخراج‌شده خواص بیشتری از دست داده است. به عبارتی پس از انجام شبیه‌سازی و بدست آمدن نتایج، بایستی میزان انتقال جرم به کمترین میزان ممکن رسیده تا اسانس استخراج‌شده نعناع خواص خود را حفظ نماید.

فیزیک و هندسه مسئله (مدل فیزیکی): حالت فیزیکی مسئله و شکل هندسی آن، یکی از بخش‌های مهم شبیه‌سازی بوده که در آن به‌صورت ۴ نمونه مجزا از لوله مک کارتی حاوی اسانس نعناع استخراج‌شده تحت شرایط مختلف دمای محیط و دمای یخچال با درب بسته و باز، استفاده گردید که در جدول ۱ مشخصات ابعادی ظرف مک کارتی و در شکل ۱ (الف و ب) نمونه‌های مورد مطالعه نشان داده‌شده است.

جدول ۱- ابعاد و اندازه‌های محفظه حاوی اسانس نعناع (سانتیمتر)

بعد	اندازه
ارتفاع	۵
شعاع	۱/۲۵
ضخامت	۰/۲۵

شکل ۱- نمونه‌های حاوی اسانس نعناع استخراج‌شده. الف) نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای یخچال ب) نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای محیط

معادلات حاکم بر فیزیک مسئله، مدل ریاضی و روش حل: یکی از اصول ابتدایی و اصلی جهت شبیه‌سازی پدیده‌های مختلف، معادلات حاکم بر فیزیک مسئله می‌باشد که برای حل مسئله حاضر، مدل‌سازی و بدست آوردن میزان انتقال جرم با مکانیسم نفوذ بررسی شد. در سیستم طراحی شده مورد مطالعه بر فیزیک مسئله از معادله کلی انتقال جرم استفاده‌شده که هدف کلی به دست آوردن پیش‌بینی مقدار غلظت اسانس پخش‌شده در محیط در زمان مشخصی است، معادلات حاکم بر انتقال جرم در این بخش بیان‌شده است. در معادله ۱ ساختار کلی انتقال جرم ناپایا (متغیر با زمان) که شامل بخش‌های گوناگون است، گزارش شده است:

(۱)

$$\frac{\partial C}{\partial t} + u.\nabla.C = D\nabla^2 C + R$$

که در معادله حاضر، R مربوط به ترم واکنش، D ضریب نفوذ ، t زمان انجام فرآیند، C غلظت و u سرعت سیال است. اگر معادله ۱ به‌صورت گسترده بیان شود معادله کلی انتقال جرم، به معادله ۲ در سیستم مختصاتی استوانه‌ای به‌صورت زیر تبدیل خواهد گشت:

(۲)

$$\frac{\partial C}{\partial t} + u.\nabla C = D\left[\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{1}{r}\frac{\partial C}{\partial r} + \frac{1}{r^2}\frac{\partial^2 C}{\partial \theta^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial z^2}\right] + R$$

معادله ۲ حاوی انواع بخش‌های مختلف بوده که بسیاری از بخش‌های گزارش شده در سیستم مورد مطالعه وجود ندارند، به همین خاطر با فرضیات زیر معادله کلی انتقال جرم ناپایا ساده‌سازی شده و برخی از بخش‌ها حذف می‌شوند. فرضیات انجام‌شده در مدل‌سازی نفوذ و پخش اسانس به‌صورت زیر است :

۱- در طول فرآیند دما و فشار ثابت در نظر گرفته می‌شود.

۲- انتقال جرم در جهت z بوده و از سایر جهت‌های مختصاتی صرف‌نظر شده است.

۳- هیچ‌گونه واکنشی در سیستم رخ نمی‌دهد.

۴- انتقال جرم صرفاً از مکانیسم نفوذ اتفاق افتاده و با توجه به ساکن بودن سیال، انتقال جرم به‌صورت جابجایی وجود ندارد.

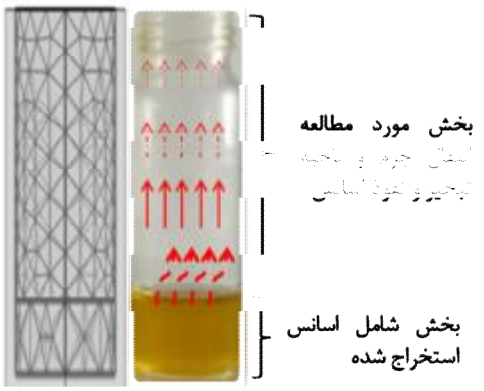
۵- ضریب نفوذ اسانس در محیط (هوای محیط و یخچال) ثابت در نظر گرفته‌شده است.

با فرضیات در نظر گرفته‌شده، معادله ۲، به‌صورت زیر تبدیل گشته که به قانون دوم فیک شناخته می‌شود:

(۳)

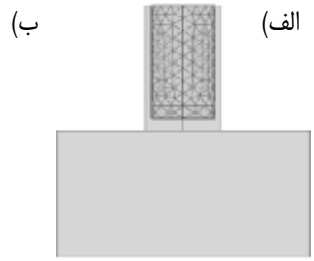
$$\frac{\partial C}{\partial t} = D\frac{\partial^2 C}{\partial z^2}$$

با ساده‌سازی‌های انجام‌شده، جهت شبیه‌سازی فرآیند با استفاده از قوانین انتقال جرم، با توجه به شماتیک نشان داده‌شده در شکل ۲ که برای هر چهار شرایط نگه‌داری حاکم است، مقاومت‌های موجود در بحث نفوذ مشخص‌شده و همچنین شرایط مرزی و اولیه باید مشخص شوند که در بخش بعدی بحث شده است.



شکل ۲- شماتیک کلی فرآیند انتقال جرم (نفوذ) اسانس از محفظه نگه‌داری آن

گره بندی، روش حل شرایط مرزی و اولیه: نرم‌افزار COMSOL جهت حل پدیده‌های فیزیکی از روش‌های عددی استفاده می‌کند که در مسئله حاضر از روش حل عددی المان محدود استفاده خواهد شد که تمامی بخش‌های مورد مطالعه به گره‌ها، بخش‌ها و المان‌های کوچک تبدیل‌شده و هر کدام به‌عنوان یک معادله در نظر گرفته می‌شوند. مطابق با شکل ۳ (الف و ب) که مربوط به فیزیک مسئله در دو حالت درب باز و درب بسته می‌باشد، فیزیک مسئله به گره‌های مختلف تقسیم‌شده است.



شکل ۳- گره بندی کل سامانه مورد مطالعه الف) نمونه‌های نگه‌داری شده در ظرف درب بسته ب) نمونه‌های نگه‌داری شده در ظرف درب باز

در حل هر کدام از معادلات دیفرانسیل نیاز به شرایط مرزی و اولیه می‌باشد که در تحقیق حاضر جهت حل مسئله بر اساس به معادله ۳ که به‌صورت معادله دیفرانسیل جزئی می‌باشد، نیاز به ۲ شرط مرزی و ۱ شرط اولیه می‌باشد که شرایط به‌صورت زیر در نظر گرفته شد:

۱- شرط مرزی: میزان غلظت اسانس در انتهای محفظه (مبدأ از درب محفظه)، کامل (به‌صورت پارامتری ۱ در نظر گرفته‌شده است)، به عبارتی: $C\left(z=0,t\right)=1$

۲- شرط مرزی: میزان غلظت اسانس در ابتدای محفظه، صفر، به عبارتی $C\left(z=l,t\right)=0$

۳- شرط اولیه: میزان غلظت اسانس در ابتدای زمان مورد مطالعه، معادل غلظت اولیه (کامل)، به عبارتی $C\left(z,t=0\right)=1$ (C_0)

حال برای حل معادله ۳ به‌صورت عددی در حالت وابسته به زمان (ناپایا) نیاز به یک ضریب نفوذ مولکولی می‌باشد که با توجه به فرضیات انجام‌گرفته به‌صورت ثابت و با مطالعه مراجع مقدار $41\times10^{-10}\left(\frac{m^2}{s}\right)$ در نظر گرفته شد.

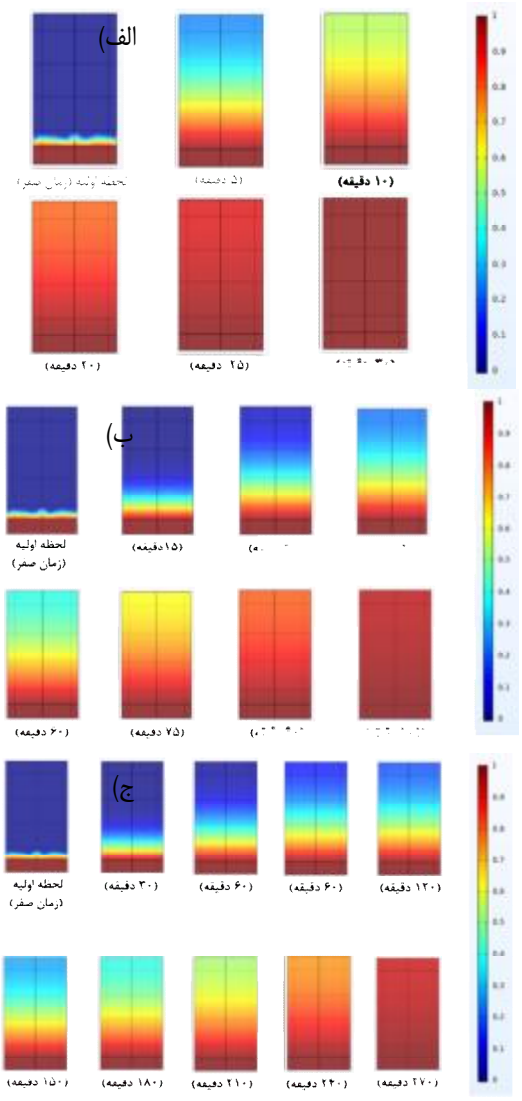
۳- نتایج و بحث

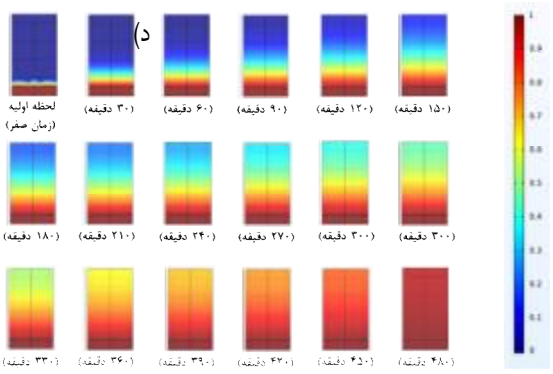
۳-۱- حل مسئله و تفسیر نتایج شبیه سازی:

۳-۱-۱- تغییرات غلظت با زمان به‌صورت شماتیک گرافیکی:

با توجه به فرضیات انجام‌گرفته و همچنین ساده‌سازی روابط ریاضی بیان‌شده و اعمال شرایط مرزی و اولیه، معادله (۳) به‌صورت عددی حل شد که هدف در آن بدست آوردن میزان انتقال جرم و مقدار غلظت اسانس روغنی نعناع استخراج‌شده در بازه‌های زمانی مختلف در ۴ حالت مجزا در ظرف نگه‌داری آن بود.

نتایج گرافیکی و لحظه‌ای برای ۴ حالت نگه‌داری اسانس روغنی در شکل ۴ (الف الی د) نشان داده‌شده است.





شکل ٤- شماتیک گرافیکی تغییرات غلظت اسانس نعناع استخراج‌شده در لوله مک کارتی تحت شرایط مختلف نگه‌داری
الف) نمونه نگه‌داری شده در ظرف درب باز و دمای محیط
ب) نمونه نگه‌داری شده در ظرف درب باز و دمای یخچال
ج) نمونه نگه‌داری شده در ظرف درب بسته و دمای محیط
د) نمونه نگه‌داری شده در ظرف درب بسته و دمای یخچال

با توجه به شکل ۴ (الف الی د)، تغییرات غلظت از ۰ الی ۱ به ترتیب با رنگ های آبی و قرمز نشان داده‌شده و اعداد بین این مقادیر با رنگ های مختلف مشخص‌شده است.

در شکل ۴الف که مربوط به محفظه درب باز در دمای محیط می‌باشد، پس از گذشت ۳۰ دقیقه، کل محفظه حاوی اسانس شده و پس از آن عملیات تبخیر رخ خواهد داد که این پدیده بسیار نامطلوب بوده و با این نرخ تبخیر، اسانس استخراج‌شده هم دچار تغییرات شیمیایی گردیده و سبب کاهش حجم بالایی از اسانس خواهد شد.

محاسبات شبیه‌سازی برای حالتی که محفظه نگه‌داری اسانس دارای شرایط درب باز بوده و محفظه در دمای یخچال باشد در شکل ۴ب نشان داده‌شده است که این محاسبات نشان می‌دهد سرعت تبخیر و اسانس در دمای یخچال به‌مراتب پایین‌تر از حالتی است که در دمای محیط اتفاق خواهد افتاد و پس از ۱۰۵ دقیقه این پدیده شروع خواهد گردید. علت این پدیده مربوط به ارتباط مستقیم ضریب نفوذ و دما می‌باشد که در دماهای پایین‌تر، ضریب نفوذ کاهش پیدا خواهد کرد.

شکل ۴ج، مربوط به حالتی می‌باشد که محفظه حاوی اسانس نعناع در دمای محیط بوده و درب آن بسته می‌باشد، در این حالت نسبت به حالت‌های قبل، با توجه به اینکه اسانس توانایی اینکه آزادانه وارد محیط گردد وجود نداشته و اجباراً در محفظه باقی خواهد ماند، مدت زمان نهایی لازم تا اینکه کل محفظه حاوی اسانس گردد مقدار ۲۷۰ دقیقه می‌باشد.

در نهایت شکل ۴د حالتی را نشان می‌دهد که اسانس نعناع استخراج‌شده در محفظه درب بسته بوده و در دمای یخچال نگه‌داری می‌شود، این حالت بهترین شرایط نگه‌داری بوده که در آن با توجه به پایین بودن دما و همچنین درب بالای محفظه، کمترین میزان تغییر غلظت اتفاق افتاده و در نهایت مدت زمان بیشتری نسبت به سایر شرایط نگه‌داری مورد نیاز می‌باشد تا کل محفظه حاوی اسانس گردیده و سپس فرآیند تبخیر (هرچند به‌طور جزئی) رخ دهد. این زمان برای این حالت ۴۸۰ دقیقه (معادل ۸ ساعت) می‌باشد.

با توجه به اینکه در بخش حاضر بهترین نتایج و شرایط نگه‌داری مربوط به دمای یخچال و حالت درب بسته می‌باشد، در ادامه منحنی‌های تغییر غلظت در محفظه حاوی اسانس جهت بررسی بهتر و دقیق‌تر رسم شده است.

۳-۱-۲- تغییرات غلظت با بعد مکان در حالت درب بسته و شرایط نگهداری دمای یخچال

اسانس روغنی نعناع همانند سایر اسانس‌های روغنی حساسیت‌های خاصی در نگه‌داری آن وجود داشته که پیدا کردن بهترین شرایط که زمان ماندگاری آن را افزایش دهد بسیار مناسب و کاربردی خواهد بود. با شبیه‌سازی انجام‌گرفته در حالت‌های مختلف، نتایج نشان

داد که بهترین شرایط نگه‌داری دمای یخچال با حالت درب بسته محفظه می‌باشد که جهت بررسی دقیق‌تر تغییرات غلظت اسانس در محفظه نگه‌داری آن، محاسبات انجام‌گرفته و منحنی‌های حاوی تغییرات غلظت در شکل ۵ (الف الی ج) رسم گردید.

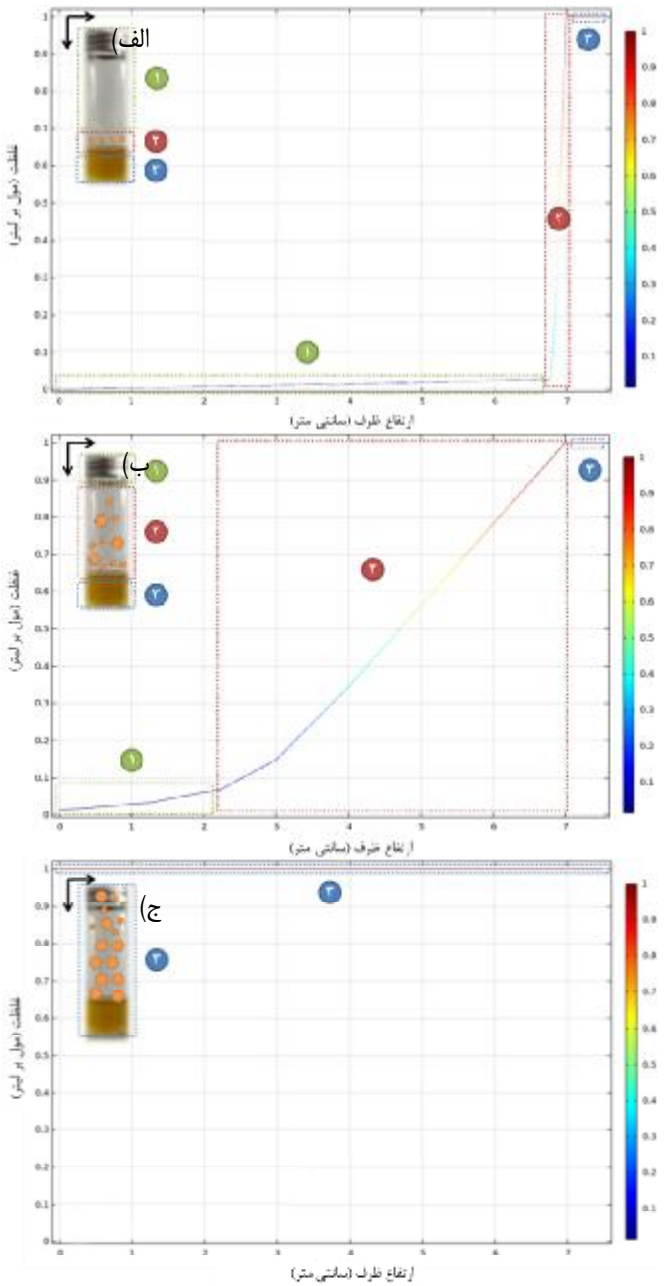
در شکل ۵ الف، این محاسبات در زمان اولیه استخراج اسانس انجام‌گرفته که در این حالت ۳ بخش با غلظت‌های مختلف در محفظه حاوی اسانس به وجود خواهد آمد، همان‌طور که در شکل نیز مشخص‌شده است، ناحیه ۱ مربوط به بخش خالی محفظه بوده که غلظت اسانس در این ناحیه بسیار کم بوده و نزدیک صفر می‌باشد، که در نمودار نیز این مقادیر به‌صورت خطی با شیب بسیار پایین نشان داده‌شده است، ناحیه ۲ که بسیار بخش بسیار باریکی را شامل می‌شود، مربوط به مرز بین اسانس روغنی و هوای بالای آن بوده و غلظت اسانس در این ناحیه کاملاً متغیر می‌باشد، به‌طوری‌که از مقدار ۱ شروع‌شده و تا نزدیک صفر ادامه پیدا خواهد کرد. ناحیه ۳ مربوط به اسانس روغنی استخراج‌شده می‌باشد که غلظت آن ۱ می‌باشد.

با توجه به شماتیک گرافیکی بدست آمده در شکل ۴د، نمودارهای مختلف در زمان‌های مختلف با گام ۳۰ دقیقه تا زمان نهایی ۴۸۰ دقیقه رسم گردید که جهت نمونه زمان‌های ۲۴۰ دقیقه و ۴۸۰ دقیقه (زمان نهایی به حد ثابت رسیدن غلظت) در ادامه گزارش گردید.

در شکل ۵ب، منحنی تغییرات غلظت در محفظه حاوی اسانس را در زمان ۲۴۰ دقیقه نشان می‌دهد که علت انتخاب زمان ۲۴۰ دقیقه، زمان میانگین بین لحظه اولیه (صفر دقیقه) و لحظه نهایی (۴۸۰ دقیقه) می‌باشد. همان‌طور که در این شکل نیز مشاهده می‌گردد، محفظه حاوی اسانس در این حالت نیز به ۳ ناحیه تبدیل‌شده است که ناحیه ۳ مشابه حالت قبل، مربوط مقدار مایع اسانس استخراج‌شده در انتهای محفظه نگهداری بوده، ناحیه ۲ ناحیه وسیعی را در بر گرفته و غلظت اسانس نعناع در این ناحیه بسیار متغیر می‌باشد، علت اینکه این ناحیه حاوی مقادیر متفاوتی از غلظت اسانس می‌باشد این است که پس از گذشت ۲۴۰ دقیقه طبیعتاً میزان و مقدار اسانس تبخیر شده از سطح مایع مقدار قابل‌توجهی بوده و این مقدار ثابت نمی‌باشد و پس از مدت زمان بیشتر فرآیند، احتمال تغییر آن وجود داشته و دچار افزایش خواهد گردید. ناحیه ۱ نیز مربوط به بخش از محفظه می‌باشد که اسانس نعناع هنوز به آن ناحیه نرسیده و غلظت در این نواحی تقریباً صفر می‌باشد.

در انتها در شکل ۵ج، منحنی تغییرات غلظت در محفظه حاوی اسانس پس از ۴۸۰ دقیقه نشان داده‌شده است که به‌صورت ۱ ناحیه ثابت می‌باشد که در شکل جهت مقایسه با دو شکل ۵الف و ۵ب با شماره ۳ نشان داده‌شده است، در این حالت غلظت اسانس در کل محفظه مقدار ثابتی داشته و نتایج نشان می‌دهد که تبخیر جزئی از سطح اسانس کل محفظه را پوشش داده و مقدار غلظت در کل محفظه مقدار ۱ را دارا خواهد بود.

با نتایج بدست آمده از شکل ۴ و ۵ نقطه شروع فرآیند تبخیر اسانس به بیرون از محفظه بدست آمده و به‌صورت آزمایشگاهی و عملیاتی در ادامه پژوهش حاضر، نتایج کاهش مقدار اسانس در حالت‌های مختلف و شرایط نگه‌داری متفاوت گزارش شده است.



شکل ۵- منحنی تغییرات غلظت در مقابل ارتفاع ظرف نگه‌داری اسانس (لوله مک کارتی)، شرایط نگه‌داری: درب بسته تحت شرایط دمای یخچال در زمان‌های مختلف الف) زمان اولیه استخراج اسانس (لحظه اولیه) ب) زمان ۲۴۰ دقیقه ج) زمان ۴۸۰ دقیقه

۳-۲- نتایج آزمایشگاهی و تجربی

۳-۲-۱- اندازه‌گیری مقدار اسانس پس از مدت زمان مشخص با شرایط نگه‌داری متفاوت

در بخش قبل، نتایج حاصل از شبیه‌سازی در ۴ حالت مختلف نگه‌داری اسانس استخراج‌شده بدست آمد و به‌صورت جداگانه برای هرکدام از شرایط نگه‌داری، لحظه ثابت شدن غلظت در کل محفظه و یا به عبارتی نقطه تبخیر اسانس به خارج از محفظه بدست آمد. در این بخش با توجه به نتایج بدست آمده از شبیه‌سازی، که برای حالت‌های مختلف، لحظه خروج اسانس به خارج از محفظه متفاوت می‌باشد. اندازه‌گیری میزان حجم اسانس باقیمانده در محفظه در دوره‌های زمانی متفاوتی اندازه‌گیری شده است. مقدار حجم اسانس

استخراج‌شده در ابتدای مرحله اسانس گیری، ۲/۴ میلی‌لیتر می‌باشد. در جدول ۲ و ۳ برای حالت درب باز و درب بسته محفظه به‌طور جداگانه، اندازه‌گیری‌های مقدار حجم اسانس انجام‌گرفته و نتایج حاصل‌شده گزارش شده است.

جدول ۲- مقدار حجم اسانس استخراج‌شده با گذشت زمان‌های مختلف در ظرف درب باز تحت شرایط دمایی محیط و یخچال

ظرف درب باز (دمای محیط)		ظرف درب باز (یخچال)	
زمان اندازه‌گیری (دقیقه)	حجم اسانس (میلی‌لیتر)	زمان اندازه‌گیری (دقیقه)	حجم اسانس (میلی‌لیتر)
۰	۲/۴	۰	۲/۴
۳۰	۲/۴	۱۰۵	۲/۴
۶۰	۲/۴*	۲۱۰	۲/۳
۹۰	۲/۳	۳۱۵	۲/۳*
۱۲۰	۲/۲	۴۲۰	۲/۲
۱۵۰	۲/۱	۵۲۵	۲/۱*
۱۸۰	۲*	۶۳۰	۲

* تقریباً: کمتر از مقدار گزارش شده می‌باشد.

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده گردید، اندازه‌گیری‌های میزان حجم اسانس برای محفظه درب باز در دو شرایط دمایی مختلف (دمای محیط و یخچال) انجام گرفت که این مقادیر بر پایه محاسبات انجام‌گرفته در شبیه‌سازی که نقطه شروع فرآیند تبخیر اسانس را مشخص نموده بود انجام‌گرفته است، برای حالت ظرف درب باز در دمای محیط، این مقدار ۳۰ دقیقه بود که با این گام محاسبه میزان حجم اسانس باقیمانده در محفظه انجام گرفت و در نهایت پس از گذشت ۱۸۰ دقیقه (۳ ساعت)، حجم اسانس با کاهش بیش از ۰/۴ میلی‌لیتری، به مقدار کمتر از ۲ میلی‌لیتر رسید. اندازه‌گیری حجم اسانس در حالت درب باز در دمای یخچال نیز مشابه این حالت انجام گرفت و با گام ۱۰۵ دقیقه یک‌بار، مقدار حجم اسانس مورد اندازه‌گیری قرار گرفت، که پس از گذشت ۶۳۰ دقیقه (معادل ۱۰ ساعت و ۳۰ دقیقه)، حجم اسانس به مقدار ۲ میلی‌لیتر رسید.

جدول ۳- مقدار حجم اسانس استخراج‌شده با گذشت زمان‌های مختلف در ظرف درب بسته تحت شرایط دمایی محیط و یخچال

ظرف درب بسته (دمای محیط)		ظرف درب بسته (یخچال)	
زمان اندازه‌گیری (دقیقه)	حجم اسانس (میلی‌لیتر)	زمان اندازه‌گیری (دقیقه)	حجم اسانس (میلی‌لیتر)
۰	۲/۴	۰	۲/۴
۲۷۰	۲/۴	۴۸۰	۲/۴
۵۴۰	۲/۴	۹۶۰	۲/۴
۷۱۰	۲/۴	۱۴۴۰	۲/۴
۱۰۸۰	۲/۴*	۱۹۲۰	۲/۴
۱۳۵۰	۲/۳*	۲۴۰۰	۲/۴*
۱۶۲۰	۲/۲	۲۸۸۰	۲/۴*

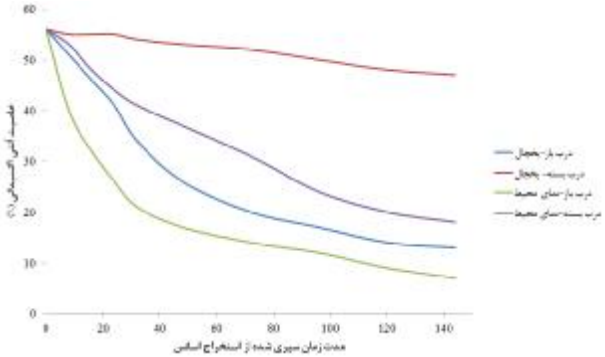
* تقریباً: کمتر از مقدار گزارش شده می‌باشد.

مشابه با جدول ۲، در جدول ۳ با حالت درب بسته محفظه نگه‌داری اسانس در دو حالت دمای محیط و دمای یخچال مورد اندازه‌گیری قرار گرفت که نتایج نشان داد در دمای محیط، محفظه درب بسته حاوی اسانس نعناع با گام ۲۷۰ دقیقه و پس از ۱۶۲۰ دقیقه (معادل ۲۷ ساعت) کاهش ۰/۲ میلی‌لیتری داشته که نسبت به حالت مشابه آن (درب باز) کاهش بسیار کمی می‌باشد. همچنین با اندازه‌گیری مقدار حجم اسانس در ظرف درب بسته با شرایط دمایی یخچال، پس از گذشت ۲۸۸۰ دقیقه (معادل ۴۸ ساعت)، کاهش حجم اسانس بسیار اندک و مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر می‌باشد.

با مقایسه دو حالت درب باز و درب بسته محفظه نگه‌داری اسانس (نتایج جدول ۲ و ۳) نتایج نشان داد که در حالت درب بسته محفظه، میزان کاهش حجم اسانس بسیار طولانی‌تر بوده به نظر می‌رسد با توجه به فرار بودن اسانس گیاهی استخراج‌شده، هرچقدر دمای نگه‌داری بیشتر باشد، این کاهش حجم تسریع خواهد شد.

۳-۲-۲- فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس روغنی نعناع با شرایط نگه‌داری متفاوت

اسانس‌های گیاهی خواص متعدد و بسیار مفیدی دارند که یکی از اصلی‌ترین خواص آن‌ها، توانایی مهار رادیکال‌های آزاد و یا به عبارتی فعالیت آنتی اکسیدانی آن‌ها می‌باشد، اسانس روغنی نعناع یکی از اسانس‌های مهم با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا می‌باشد که در این بخش علاوه بر ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس نعناع، اثرات روش‌های مختلف نگه‌داری اسانس بر روی این خاصیت مورد ارزیابی قرارگرفته که نتایج آن در شکل ۶ گزارش شده است.



شکل ٦- فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس استخراج‌شده در طول زمان نگه‌داری تحت شرایط مختلف نگه‌داری

همان‌طور که در شکل ۶ نشان داده‌شده است، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس روغنی نعناع با مقدار ۵۶/۱۲٪ (در ابتدای فرآیند اسانس گیری) دارای فعالیت بالایی در مقایسه با سایر اسانس‌های گیاهی بوده که در مهار رادیکال‌های آزاد به‌خوبی عمل خواهد کرد. جهت ارزیابی کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس استخراج‌شده با شرایط مختلف نگه‌داری، پس از گذشت فواصل زمانی مختلف، ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی برای ۴ شرایط مختلف نگه‌داری اسانس انجام‌گرفته و در نهایت پس از ۱۴۴ ساعت زمان نگه‌داری (معادل ۶ شبانه‌روز) فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها با شرایط مختلف ۱- دمای محیط با درب باز محفظه ۲- دمای محیط با درب بسته محفظه ۳- دمای یخچال با درب باز محفظه و ۴- دمای یخچال با درب بسته محفظه به ترتیب به مقادیر ۷/۵۶٪، ۱۸/۷۱٪، ۱۳/۰۹٪ و ۴۷/۳۵٪ رسید. بدین ترتیب فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه در محفظه درب بسته تحت شرایط دمای یخچال کمترین کاهش خاصیت (۱۶٪) و نمونه در محفظه درب باز در دمای محیط با بیشترین کاهش خواص (تقریباً ۸۹٪) به ترتیب بهترین و بدترین شرایط نگه‌داری اسانس در برابر فعالیت آنتی اکسیدانی معرفی می‌شوند. به نظر می‌رسد دو عامل مهم و اساسی در اثرگذاری فعالیت آنتی اکسیدانی نقش کلیدی داشته باشند که شامل دما و هوای محیط می‌باشد، درصورتی‌که عامل دما کاهش پیداکرده و اثر مستقیم و تبادل هوا با اسانس به حداقل برسد، فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس حفظ گردیده و کاهش نامحسوسی خواهد داشت.

مقایسه دو عامل دما و اثر محیط (هوا) و اثرگذاری آن‌ها بر فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس نشان داد که عامل هوا اثرگذاری بیشتری داشته و در صورت تبادل اسانس با هوا، خاصیت آنتی اکسیدانی آن کاهش بیشتری خواهد داشت.

۳-۲-۳- خاصیت ضدباکتریایی اسانس روغنی نعناع با شرایط نگه‌داری متفاوت

یکی دیگر از خواص کاربردی و فوق‌العاده اسانس‌های گیاهی، خاصیت ضدباکتریایی آن‌ها بوده که دربرگیرنده طیف گسترده‌ای از باکتری‌های مختلف بوده که در مقابل اسانس‌های گیاهی توانایی رشد خود را از دست خواهند داد. در پژوهش حاضر از دو گونه مختلف باکتریایی گرم منفی (*اشرشیا کولی*) و گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) ضمن بررسی خاصیت ضد باکتریایی اسانس روغنی نعناع، همچنین اثر شرایط نگه‌داری اسانس بر روی این خواص مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۴ و ۵ گزارش شده است.

جدول ٤- خاصیت ضدباکتریایی اسانس استخراج‌شده در طول زمان نگه‌داری تحت شرایط مختلف نگه‌داری بر روی باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* (میلی‌متر هاله ایجاد شده اطراف چاهک)

زمان انجام آزمون (ساعت پس از استخراج)	ظرف درب باز (یخچال)	ظرف درب بسته (یخچال)	ظرف درب باز (دمای محیط)	ظرف درب بسته (دمای محیط)
۰	۲۲±۰/۳	۲۲±۰/۳	۲۲±۰/۳	۲۲±۰/۳
۲۴	۱۹±۰/۳	۲۲±۰/۳	۱۲±۰/۲	۱۸±۰/۳
۴۸	۱۶±۰/۳	۲۲±۰/۲	۸±۰/۱	۱۴±۰/۳
۷۲	۱۲±۰/۲	۲۱±۰/۳	۶±۰/۱	۱۱±۰/۳
۹۶	۹±۰/۱	۲۰±۰/۲	۲±۰/۱	۹±۰/۲
۱۲۰	۷±۰/۱	۱۹±۰/۲	۲۲±۰/۳	۶±۰/۱
۱۴۴	۵±۰/۱	۱۹±۰/۱	۰±۰/۰	۴±۰/۱

نتایج بدست آمده در جدول ۴ و ۵ بر اساس قطر هاله تشکیل‌شده در اطراف چاهک اندازه‌گیری گردیده و تحلیل و تفسیر گردید، توضیح اینکه هرچقدر این مقدار بیشتر باشد، نشانگر خاصیت بیشتر نمونه مورد ارزیابی می‌باشد.

همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده‌شده است، قطر هاله ایجاد شده در ابتدای فرآیند اسانس گیری ۲۲ میلی‌متر بوده که پس از گذشت زمان (گام‌های ۲۴ ساعته-معادل ۱ شبانه‌روز) با ارزیابی دوباره این خاصیت، قطر هاله ایجاد شده کاهش پیدا خواهد کرد. با ارزیابی نتایج بدست آمده از جدول ۴ نتایج نشان داد که خاصیت ضدباکتریایی اسانس روغنی نعناع در برابر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس*، تحت شرایط نگه‌داری درب باز و دمای محیط بیشترین کاهش خاصیت را داشته و به‌طوری‌که پس از گذشت ۱۴۴ ساعت از شرایط نگه‌داری، این خاصیت به تقریباً صفر رسید و در مقابل شرایط نگه‌داری درب بسته محفظه نگه‌داری اسانس تحت شرایط دمایی یخچال کمترین کاهش خاصیت ضدباکتریایی را با قطر هاله تشکیل‌شده ۱۹ میلی‌متر نشان داد. نمونه‌های نگه‌داری شده در حالت درب باز و دمای یخچال و درب بسته در دمای محیط به ترتیب دارای قطر هاله ۵ و ۴ میلی‌متر می‌باشند. بدین ترتیب شرایط نگه‌داری اسانس در محفظه با درب بسته در دمای یخچال با کاهش ۱۳٪ در خاصیت ضد باکتریایی، بهترین شرایط نگه‌داری اسانس انتخاب گردید. با مقایسه اثرات دما و هوا بر روی خاصیت ضدباکتریایی، نتایج نشان داد که این دو عامل تقریباً به‌طور

یکسان بر روی خاصیت ضدباکتریایی اثرگذار بوده و درصورتی‌که اسانس تحت شرایط دمای پایین و عدم تبادل با محیط نگه‌داری گردد، خاصیت بالاتر ضدباکتریایی از خود نشان خواهد داد.

جدول ۵- خاصیت ضدباکتریایی اسانس استخراج‌شده تحت شرایط مختلف نگه‌داری بر روی باکتری گرم منفی *اشرشیا کولی* (میلی‌متر هاله ایجاد شده اطراف چاهک)

زمان انجام آزمون (ساعت پس از استخراج)	ظرف درب باز (یخچال)	ظرف درب بسته (یخچال)	ظرف درب باز (دمای محیط)	ظرف درب بسته (دمای محیط)
۰	۱۷±۰/۲	۱۷±۰/۴	۱۷±۰/۳	۱۷±۰/۲
۲۴	۱۳±۰/۳	۱۷±۰/۲	۹±۰/۳	۱۳±۰/۳
۴۸	۱۱±۰/۲	۱۷±۰/۲	۵±۰/۲	۱۰±۰/۳
۷۲	۸±۰/۱	۱۶±۰/۲	۳±۰/۳	۹±۰/۲
۹۶	۶±۰/۲	۱۵±۰/۲	۱±۰/۱	۷±۰/۱
۱۲۰	۵±۰/۲	۱۵±۰/۲	۱±۰/۰	۵±۰/۲
۱۴۴	۴±۰/۱	۱۵±۰/۱	۰±۰/۰	۴±۰/۱

در جدول ۵ نتایج حاصل از خاصیت اسانس روغنی نعناع بر روی باکتری گرم منفی *اشرشیا کولی* گزارش شده است که در این جدول نیز مشابه با جدول ۴، نتایج گزارش شده بر اساس قطر هاله تشکیل‌شده در اطراف چاهک حاوی اسانس نعناع می‌باشد.

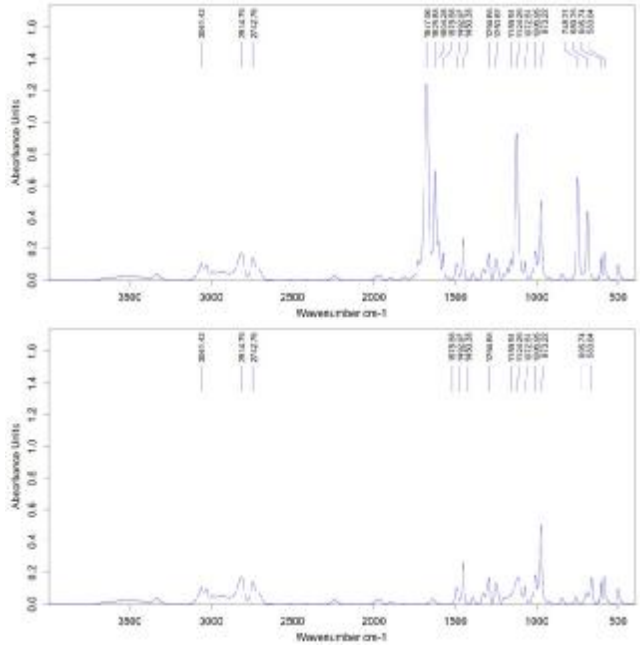
همان‌طور که مشاهده می‌گردد، در ابتدای فرآیند اسانس گیری قطر هاله ایجاد شده ۱۷ میلی‌متر بوده که در مقایسه با اثر و خاصیت این اسانس بر روی باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* میزان کمتری داشته که در سایر پژوهش‌های محققان نیز نتایج مشابه بدست آمده است، به‌طوری‌که با توجه به وجود لایه مستحکم لیپوپلی ساکاریدی[1] در باکتری‌های گرم منفی، باعث مقاومت نسبی بیشتر آن‌ها نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در مقابل عوامل خارجی می‌باشد (۱ و ۹).

با مقایسه نتایج بدست آمده از خاصیت ضد باکتریایی اسانس روغنی نعناع در شرایط مختلف نگه‌داری آن، مشابه با حالت قبل (اثر اسانس بر روی باکتری‌های گرم مثبت)، بهترین شرایط نگه‌داری مربوط به محفظه حاوی اسانس با درب بسته تحت شرایط دمایی یخچال با ۱۵ میلی‌متر قطر هاله (۱۱٪ کاهش خاصیت) و بدترین شرایط نگه‌داری مربوط به محفظه حاوی اسانس با درب باز تحت شرایط دمای محیط (۱۰۰٪ کاهش خاصیت) پس از ۱۴۴ ساعت (معادل ۶ شبانه‌روز) بود. دیگر شرایط نگه‌داری که شامل ظرف درب باز در دمای یخچال و ظرف درب بسته در دمای محیط می‌باشد، با قطر هاله ایجاد شده ۴ میلی‌متر، دستخوش تغییر و کاهش ۷۶٪ در خاصیت ضدباکتریایی گردیدند. بدین ترتیب مشابه با حالت قبل، اثر دما و هوا بر روی خاصیت ضدباکتریایی اثری یکسان داشته و در صورت جلوگیری از تبادل هوا با اسانس روغنی و نگه‌داری در دمای پایین‌تر، اسانس خاصیت ضدباکتریایی بهتری از خود نشان خواهد داد.

[1] LPS: Lipo Poly Saccharide

۳-۲-٤- طیف‌سنجی FTIR اسانس روغنی نعناع

آنالیز FTIR یکی از روش‌های مناسب جهت پی بردن به گروه‌های عاملی موجود در مواد بوده که روشی ساده و کم‌هزینه می‌باشد (۸). با توجه به نتایج بدست آمده از خاصیت آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی اسانس روغنی نعناع در ابتدای استخراج و اسانس گیری آن و پس از گذشت مدت زمان معین در نمونه با ظرف درب باز در شرایط دمای محیط که کاهش محسوسی در خواص آن صورت گرفت. در بخش حاضر طیف‌سنجی FTIR در دو حالت ۱- ابتدای فرآیند اسانس گیری ۲- پس از گذشت ۱۴۴ ساعت (معادل ۶ شبانه‌روز) انجام گرفت که نتایج آن در شکل ۷ الف و ب گزارش شده است.



شکل ۷. طیف‌سنجی FTIR اسانس روغنی نعناع در محفظه درب باز با شرایط دمایی محیط در دو حالت الف) پس از اسانس گیری در لحظه اولیه ب) پس از گذشت ١٤٤ ساعت

همان‌طور که در شکل ۷ الف نشان داده‌شده است، آنالیز طیف‌سنجی FTIR حاصل از اسانس استخراج‌شده در لحظه اولیه شامل گروه‌های عاملی مختلف و متعددی بوده که عددهای موجی ۱۶۷۷، ۱۱۵۹ و ۷۴۸ cm^{-1} به‌طور محسوس‌تر و دارای شیب‌های بسیار تند و تیزتر از سایر پیک‌های موجود در آنالیز می‌باشد که عمده خواص اسانس نعناع که شامل خاصیت ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی می‌باشد، مربوط به این گروه‌های عاملی که شامل آلکان ها، گروه‌های آروماتیک و کربوکسیلی می‌باشد، با مقایسه شکل ۷الف و ۷ ب، گروه‌های عاملی شاخص و اصلی موجود در اسانس نعناع در حالت اولیه، در شکل ۷ ب مشاهده نشده و نتایج نشان می‌دهد که با گذشت زمان و اثرات دما و عوامل محیطی بر روی اسانس اثرات نامطلوبی برجای گذاشته و باعث از بین رفتن خواص آن شده‌اند که در شکل ۷ب به‌وضوح کاهش و حتی حذف گروه‌های عاملی مربوط به آن مشاهده می‌شود.

٤- نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر در سه بخش اصلی انجام گرفت که شامل اسانس گیری از گیاه نعناع، شبیه‌سازی شرایط نگه‌داری در حالات مختلف و در نهایت کاربرد و خاصیت اسانس استخراج‌شده پس از مدت زمان نگه‌داری با شرایط مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. استخراج اسانس روغنی نعناع با استفاده از دستگاه کلونجر و روش تقطیر با آب و بخار انجام گرفت، روش حاضر یکی از بهترین روش‌ها در

استخراج اسانس‌های گیاهی بوده که کمترین آسیب را به خواص مختلف آن منجر خواهد شد. شرایط مختلف نگه‌داری برای اسانس استخراج‌شده که شامل اثرات دما (دمای محیط و یخچال) و اثرات هوا (محفظه با درب باز و درب بسته) در نظر گرفته شد و با شبیه‌سازی شرایط مختلف با توجه به فرار بودن اسانس‌های گیاهی، نقطه شروع، به عبارتی زمان اولیه تبخیر اسانس محاسبه گردید که برای ظرف درب بسته محتوی اسانس تحت دمای یخچال طولانی‌ترین و ظرف درب باز محتوی اسانس تحت دمای محیط سریع‌ترین زمان تبخیر بدست آمد. در نهایت مقدار اسانس، فعالیت آنتی اکسیدانی و خاصیت ضدباکتریایی اسانس استخراج‌شده تحت شرایط مختلف نگه‌داری مورد ارزیابی قرار گرفت که نتایج نشان داد، دو عامل دما و هوا اثرات مستقیمی بر مقدار و خواص اسانس خواهند داشت، به‌طوری‌که اثر درب محفظه حاوی اسانس در حالتی که بسته باشد (تبادل با هوا) اثر بیشتر و مهم‌تری در مقایسه با شرایط دمایی نگه‌داری (یخچال و دمای محیط) از خود در مقابل مقدار اسانس و فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد و در خاصیت ضدباکتریایی اثر این دو عامل یکسان می‌باشد. در نهایت برآیند کلی نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر بدین‌صورت می‌باشد که جهت نگه‌داری اسانس به‌صورت طولانی‌مدت، نیاز است که اسانس در دمای پایین نگه‌داری شده و ظرف محتوی اسانس حتماً به‌صورت عایق‌بندی نوری و تبادل ماده باشد تا کمترین آسیب به اسانس استخراج‌شده وارد گردد.

۵- منابع

1. Abubakar, A. R., and Haque, M. 2020. Preparation of medicinal plants: basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 12(1), 1.
2. Ahmadi, O., and Jafarizadeh-Malmiri, H. 2020. Green approach in food nanotechnology based on subcritical water: effects of thyme oil and saponin on characteristics of the prepared oil in water nanoemulsions. *Food Science Biotechnology*, 29(6), 783-792.
3. Ahmadi, O., and Jafarizadeh-Malmiri, H. 2021a. Intensification and optimization of the process for thyme oil in water nanoemulsions preparation using subcritical water and xanthan gum. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, 235(5), 629-648.
4. Ahmadi, O., and Jafarizadeh-Malmiri, H. 2021b. Intensification process in thyme essential oil nanoemulsion preparation based on subcritical water as green solvent and six different emulsifiers. *Green Processing Synthesis*, 10(1), 430-439.
5. Ahmadi, O., Seifi, M., and Jafarizadeh-Malmiri, H. 2021. Simulation of Silver Nanoparticles Green Synthesis Using Aloe Vera leaf Extract and Microwave Heating, and Evaluation of their Characteristics. *Iranian Chemical Engineering Journal*, 20(114), 82-96.
6. Alshahrani, S. H., Alameri, A. A., Zabibah, R. S., Jalil, A. T. J., Ahmadi, O., and Behbudi, G. 2022. Screening Method Synthesis of AgNPs Using Petroselinum crispum (parsley) Leaf: Spectral Analysis of the Particles and Antibacterial Study. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 66(4).
7. Chanotiya, C. S., Pragadheesh, V., Yadav, A., Gupta, P., and Lal, R. K. 2021. Cyclodextrin-based Gas Chromatography and GC/MS methods for determination of chiral pair constituents in mint essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 33(1), 23-31.
8. Eshghi, M., Kamali-Shojaei, A., Vaghari, H., Najian, Y., Mohebian, Z., Ahmadi, O., and Jafarizadeh-Malmiri, H. 2021. Corylus avellana leaf extract-mediated green synthesis of antifungal silver nanoparticles using microwave irradiation and assessment of their properties. *Green Processing Synthesis*, 10(1), 606-613.
9. Esmaili, S., Zinsaz, P., Ahmadi, O., Najian, Y., Vaghari, H., & Jafarizadeh-Malmiri, H. 2022. Screening of four accelerated synthesized techniques in green fabrication of ZnO nanoparticles using Willow leaf extract. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*.
10. Goncalves, D., Costa, P., Bejar, C. L., Bocquet, A., Rodrigues, C. E., and Rodrigues, A. E. 2018. Air diffusion of aroma-active components from crude citrus essential oils and their extract phases obtained by solvent extraction. *Industrial Engineering Chemistry Research*, 57(16), 5670-5679.
11. Isman, M. B. 2020. Commercial development of plant essential oils and their constituents as active ingredients in bioinsecticides. *Phytochemistry reviews*, 19(2), 235-241.
12. Mahboubi, M. 2021. Mentha spicata L. essential oil, phytochemistry and its effectiveness in flatulence. *Journal of Traditional Complementary Medicine*, 11(2), 75-81.

13. Makanjuola, S. A. (2017). Influence of particle size and extraction solvent on antioxidant properties of extracts of tea, ginger, and tea–ginger blend. *Food science & nutrition, 5*(6), 1179-1185.
14. Mehran, M., Masoum, S., and Memarzadeh, M. 2020. Microencapsulation of Mentha spicata essential oil by spray drying: Optimization, characterization, release kinetics of essential oil from microcapsules in food models. *Industrial Crops Products,* 154, 112694.
15. Milojević, S., Radosavljević, D. B., Pavićević, V., Pejanović, S., and Veljković, V. B. (2013). Modeling the kinetics of essential oil hydrodistillation from plant materials. *Hemijska industrija,* 67(5), 843-859.
16. Osimani, A., Garofalo, C., Harasym, J., and Aquilanti, L. 2022. Use of essential oils against foodborne spoilage yeasts: advantages and drawbacks. *Current Opinion in Food Science,* 45, 100821.
17. Sarkhosh, A., Schaffer, B., Vargas, A., Palmateer, A., Lopez, P., Soleymani, A., and Farzaneh, M. 2018. Antifungal activity of five plant-extracted essential oils against anthracnose in papaya fruit. *Biological Agriculture & Horticulture,* 34(1), 18-26.
18. Sartor, R. B., Secchi, A. R., Soares, R. d. P., and Cassel, E. 2011. Dynamic simulation of rosemary essential oil extraction in an industrial steam distillation unit. *Industrial Engineering Chemistry Research,* 50(7), 3955-3959.
19. Sousa, V. I., Parente, J. F., Marques, J. F., Forte, M. A., and Tavares, C. J. 2022. Microencapsulation of Essential Oils: A Review. *Polymers,* 14(9), 1730.
20. Torrentó Mingatos, M. (2019). Use of essential oils as alternative to food additives.
21. Yahya, N. A., Attan, N., and Wahab, R. A. 2018. An overview of cosmeceutically relevant plant extracts and strategies for extraction of plant-based bioactive compounds. *Food and Bioproducts Processing,* 112, 69-85.
22. Zochedh, A., Priya, M., Shunmuganarayanan, A., Thandavarayan, K., and Sultan, A. B. 2022. Investigation on structural, spectroscopic, DFT, biological activity and molecular docking simulation of essential oil Gamma-Terpinene. *Journal of Molecular Structure, 1268*, 133651.
23. Zorpeykar, S., Mirzaee-Ghaleh, E., Karami, H., Ramedani, Z., and Wilson, A. D. 2022. Electronic Nose Analysis and Statistical Methods for Investigating Volatile Organic Compounds and Yield of Mint Essential Oils Obtained by Hydrodistillation. *Chemosensors,* 10(11), 486.
24.

Mint essential oil: extraction, evaluation of properties, simulating and optimizing its storage conditions

Mohammadreza Miralvar[1], Paya Hasanalizadeh[1], Sarvin Mohammadi-Aghdam[2], Omid Ahmadi[3*]

1- M.Sc Graduated of Polymer Engineering Faculty, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran
2- Assistant Professor, Department of Chemistry, Payam Noor University Tehran, Iran
1- Ph.D Graduated of Food Engineering Department, Faculty of Chemical Engineering, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran

*Corresponding authors: (o_ahmadi@sut.ac.ir)

Abstract

Nowadays the discussion of research in the field of medicinal and food plants is important, and expanding the range of new drugs from natural sources as a suitable solution with strategic and economic value has become particularly important. One of these suitable and practical plants is mint (*Mentha spicata L*) and has many medicinal properties. 2.4 mL of mint essential oil was obtained by extracting the essential oil with a Clevenger device. In order to optimize the storage conditions, the extracted essential oil was stored under four different storage conditions: (1) open door of the chamber at ambient temperature (2) Closed compartment door at ambient temperature (3) Open compartment door at refrigerator temperature (4) Closed compartment door was placed at refrigerator temperature. COMSOL Multiphysics software was used with the aim of following the simulation of different storage conditions of the extracted essential oil. By simulating the mass transfer process under different storage conditions, the initial time of essential oil evaporation for 4 conditions in the storage conditions (1), (2), (3) and (4) were 30, 105, respectively. 270 and 480 min were obtained. In other words, after the calculated times, the volume reduction will occur in the extracted essential oil. The antioxidant property of mint essential oil was measured by the DPPH method and the value was 56%. After 144 hours of storage time, the antioxidant property of the samples with different conditions (1) to (4) reached the values of 7%, 18%, 13% and 47%, respectively. The results of the antibacterial properties of min essential oil against two different gram-negative (*Escherichia coli*) and gram-positive (*Staphylococcus aureus*) bacterial species were evaluated and the antibacterial properties of the essential oil against gram-positive bacteria (22 mm) were higher than gram-negative bacteria (17 mm). The evaluation of the antibacterial property of the essential oil under 4 different conditions with 144 hours passed, the best maintenance condition was condition (4) in which against gram positive bacteria, a reduction of 13% equivalent to 19 mm and against gram negative bacteria with a reduction of 11% property, halo diameter Formed 15 mm was obtained.

Key words: Antibacterial, Antioxidant, Mint essential oil, Optimization, Simulation,